沙子岭猪脂联素及其相关基因的 mRNA 和蛋白表达发育性变化规律[1]

陈宇光　秦龙山　贺　喜

（湖南农业大学动物科学技术学院，湖南畜禽安全生产协同创新中心，长沙 410001）

摘　要：本试验旨在对沙子岭猪不同组织中脂联素（*ADIPOQ*）、脂联素受体（*ADIPOR*）及其相关基因的 mRNA 和蛋白表达量的发育性变化规律进行研究。选取 12 头沙子岭猪（1、28、140 日龄各 4 头），测定不同组织器官中 *ADIPOQ*、*ADIPOR*1、*ADIPOR*2 的 mRNA 和蛋白及 2 型拓扑异构酶β型（*TOP2B*）、TATA 结合蛋白（*TBP*）mRNA 的发育性变化。结果表明：猪不同组织中 *ADIPOQ*、*ADIPOR1*、*ADIPOR2*、*TOP2β和 TBP* 的 mRNA 表达量基本随着猪的生长而逐渐升高，140 日龄时大部分组织器官中这几种基因的 mRNA 表达量显著或极显著高于 1 日龄（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。大部分组织器官中 ADIPOQ、ADIPOR1 和 ADIPOR2 的蛋白表达量呈现出降低的趋势。由此可见，*ADIPOQ* 及相关基因 mRNA 和蛋白的表达量与猪的脂肪沉积呈负相关，机体能根据自身需要对其进行调节。

关键词：脂联素；脂联素受体；基因；发育性变化；沙子岭猪

中图分类号：S828

脂联素(adiponectin，ADIPOQ，又名 Acrp30、apM1、GBP28)是由脂肪组织特异性分泌的一种脂肪细胞因子。研究表明，猪 *ADIPOQ* 基因定位在 13 号染色体上[1]，其全长包含有 3 个外显子和 2 个内含子[2]，可编码 242 个氨基酸，而人类 *ADIPOQ* 基因与猪的 *ADIPOQ* 基因相比存在 2 个氨基酸的差别，含有 244 个氨基酸。ADIPOQ 蛋白结构由 4 部分组成，即氨基端的信号序列、非同源序列、胶原样结构域以及羧基端具有生物活性的球状结构域。Yamauchi 等[3]发现了脂联素受体（adiponectin receptor，*ADIPOR*），并通过表达克隆的方法首先将它们从人类骨骼肌中分离出来。*ADIPOR* 包含 2 种亚型：*ADIPOR*1 和 *ADIPOR*2，其中，*ADIPOR*1 主要在肌肉组织中表达，与 *ADIPOQ* 的球形结构域有高度亲和性；而 *ADIPOR*2 则主要表达于肝脏和脂肪组织中，与全长 *ADIPOQ* 和 *ADIPOQ* 球形结构域都具有中度亲和性[4]。Ding 等[5]首先成功地克隆出猪的 *ADIPOQ* 及 *ADIPOR*，并发现 *ADIPOQ* mRNA 大量

收稿日期：2018-04-06

基金项目：湖南省教育厅重点项目（13A035）；湖南省重点研发计划（2015NK2004，2015JC3100，2015NK1002）

作者简介：陈宇光（1977—），男，湖南湘乡人，副教授，博士，动物生产与畜牧工程专业。E-mail: 86851365 @qq.com

存在于猪的脂肪、肝脏、心脏和肌肉等组织中。沙子岭猪是脂肪沉积型动物，我们在前期试验中已成功在沙子岭猪中克隆出 *ADIPOQ* 基因并在毕赤酵母中进行了表达[6]。因此，不同组织 *ADIPOR* 相关基因 mRNA 表达量的变化对于进一步明确 *ADIPOR* 与沙子岭猪肉脂肪沉积规律的分子机制具有重要意义。本试验拟对沙子岭猪不同组织器官中 *ADIPOQ*、*ADIPOR* 及其相关基因 mRNA 和蛋白表达量的发育性变化规律进行研究，旨在为后续的深入研究提供科学数据支撑。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验动物：沙子岭猪 12 只，购买于湘潭沙子岭原种猪场。

1.2 试验设计与方法

选取 1、28、140 日龄的沙子岭猪各 4 头，测定不同组织中 *ADIPOQ*、*ADIPOR1*、*ADIPOR2* mRNA 和蛋白表达量的发育性变化及 2 型拓扑异构酶β型（topoisomerase 2β，*TOP2β*）、TATA 结合蛋白（TATA binding protein，*TBP*）mRNA 表达量的发育性变化。

1.3 样品采集与基因表达检测

1.3.1　组织器官样品采集

分别采取 1、28 和 140 日龄沙子岭猪的心脏、肝脏、脾脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌，立即放入液氮，然后移入-80 ℃冰箱保存。

1.3.2　组织器官样品相关基因 mRNA 表达量的检测

采用 Trizol（Invitrogen 公司，美国）法提取组织中总 RNA，具体操作方法参照 Simms 等[7]，然后将 RNA 浓度调节一致，取 1 000 ng 进行反转录，反转录试剂盒购于 TaKaRa 公司（大连，中国），具体方法按说明书进行。再利用实时定量荧光（real-time quantitative）PCR 方法检测 mRNA 的表达量，引物均由维尔生物科技有限公司（长沙）合成，基因的引物设计见表 2。以β-肌动蛋白（β-actin）为内参基因进行 PCR 测定，每个样本每个指标 3 个孔，共 30 μL 体系，每孔 10 μL，具体组成如下：Template（反转录产物）1 μL，Primer A（10 μmol/L）0.5 μL，Primer B（10 μmol/L） 0.5 μL，PCR H_2O 13 μL，2×SYBGREEN PCR Master Mix 15 μL。反应条件为 95 ℃预变性 10 min，然后 95 ℃变性 10 s，39 个循环，60 ℃退火 50 s。

以 *ADIPOQ*、*ADIPOR1*、*ADIPOR2*、*TOP2β*和 *TBP* 为目的基因进行相对定量，分析其 mRNA 表达量。

表 1　基因的引物设计

Table 1　Primer design for genes

扩增基因 Amplified genes	上游引物 Upstream primer	下游引物 Downstream primers	产物长度 Product length/bp
TATA 结合蛋白 *TBP*	5'-GCTGTAATCATGAGAATAAGA-3'	5'-TCTGGCATATTTTCTTGC-3'	123
2 型拓扑异构酶β型 *TOP2β*	5'-CTTGGTCAGATGATGAATC-3'	5'-GGGATGCTTTAACTTTCAA-3'	198
脂联素受体 1 *ADIPOR*1	5'-GCTCTATTACTCGTTCTACTG-3'	5'-CCACAATGATGGCAGAAA-3'	89
脂联素受体 2 *ADIPOR*2	5'-CAGGTATAAGGCTCAGAA-3'	5'-TGCCTCTATAACAGGATC-3'	95
脂联素 *ADIPOQ*	5'-CAGGACAAGAATGTGGAC-3'	5'-TGCTCATCATTCAATGTTG-3'	174
β-肌动蛋白 β-actin	5'-CATCCTGCGTCTGGACCTGG-3'	5'-TAATGTCACGCACGATTTCC-3'	116

1.3.2　组织器官样品相关基因蛋白表达的检测

主要试剂包括：Trizol（Invitrogen 公司，美国）、反转录试剂盒（TaKaRa 公司，大连，中国）、ADIPOQ 抗体（Abcam，ab22554）、ADIPOR1 抗体（Abcam，ab126611）、ADIPOR2 抗体（Abcam，ab77612）、β-actin 抗体（Abcam，ab8226），所有引物均由维尔生物科技有限公司（长沙）合成。

将组织样品剪碎（20~30 mg），按照质量体积比=1:2 的比例加入裂解液，组织匀浆器匀浆至组织充分裂解，12 000×*g*,4 ℃离心 10 min，取上清，聚氰基丙烯酸正丁酯（BCA）定量试剂盒进行总蛋白定量。配制 10%分离胶和 5%浓缩胶，每孔 20~30 μg 总蛋白上样，每孔 10~15 μL，浓缩胶 60 V、分离胶 80 V 电泳直至溴酚蓝到底，停止电泳。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)胶在 Tris-甘氨酸转移缓冲液中平衡 30 min，在冷却条件下

100 V 恒压转膜 2 h。转膜结束后，醋酸纤维素（PVDF）膜放到含 5%脱脂奶粉的吐温-Tris-盐酸缓冲液（TBST）中室温封闭 1 h。TBST 漂洗 5 min，重复 3 次，ADIPOQ 抗体、ADIPOR1 抗体、ADIPOR2 抗体和β-actin 抗体分别按 1:1 000、1:1 000、1:1 000 和 1:2 000 的比例溶于含 5%脱脂奶粉的 TBST 中，4 ℃孵育过夜，TBST 漂洗 5 min，重复 3 次。加入相应种属二抗（1:2 000），室温孵育 1 h，TBST 漂洗 5 min，重复 3 次。配制 ECL 工作液，室温孵育转印膜 1 min，保鲜膜密封，放置于化学发光仪（Image Quant LAS 4000 mini）选取适当的时间进行显影后，采用 Bandscan 5.0 软件分析计算条带的光密度值，按以下公式对目的蛋白进行相对定量。

目的蛋白表达量=目的蛋白光密度值/β-actin 光密度值。

1.4 数据分析

试验数据用 Excel 2007 软件进行初步处理后，采用 SPSS 17.0 软件的 one-way ANOVA 程序进行系统分析，若组间差异显著，则采用 Duncan 氏法进行多重比较，以 $P<0.05$ 为差异显著性标准，$P<0.01$ 为差异极显著性标准。试验结果以“平均值±标准差”表示。

2. 结 果

2.1 不同组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 表达量的变化

由表 2 可知，随着日龄的变化，除了心脏外，猪不同组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 表达量呈现出先上升再下降的趋势。相较于 1 日龄猪不同组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 表达量，28 日龄猪心脏、肝脏、脾脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌的表达量分别升高 11.20%（$P>0.05$）、545.76%（$P<0.01$）、321.36%（$P<0.01$）、229.59%（$P<0.01$）、419.57%（$P<0.01$）、386.96%（$P<0.01$）、373.33%（$P<0.01$）和 303.37%（$P<0.01$）；除心脏外，140 日龄猪肝脏、脾脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌 7 种组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 表达量较 28 日龄猪又出现下降的趋势，其降幅分别达到 16.40%（$P>0.05$）、62.67%（$P<0.01$）、66.87%（$P<0.01$）、80.13%（$P<0.01$）、77.23%（$P<0.01$）、41.55%（$P<0.01$）和 94.15%（$P<0.01$）；除股肌中 *ADIPOQ* mRNA 表达量较 1 日龄猪降低了 76.40%（$P<0.01$）外，心脏、肝脏、脾脏、肾脏、背肌、背脂和腹脂较 1 日龄猪分别提高了 30.40%（$P>0.05$）、439.83%（$P<0.01$）、57.28%（$P<0.05$）、9.18%（$P>0.05$）、3.26%（$P>0.05$）、10.87%（$P>0.05$）、176.67%（$P<0.01$）。

表 2 不同组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 表达量的变化

Table 2　Changes of *ADIPOQ* mRNA expression in different

日龄 Days of age	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	肾脏 Kidney	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
	组织器官 Tissue and organ							
1	1.25±0.11	1.18±0.08^{Bb}	1.03±0.08^{Ba}	0.98±0.07^{Bb}	0.92±0.09^{Bb}	0.92±0.05^{Bb}	0.90±0.06^{C}	0.89±0.05^{B}
28	1.39±0.14	7.62±0.41^{Aa}	4.34±0.32^{Ac}	3.23±0.35^{Aa}	4.78±0.39^{Aa}	4.48±0.43^{Aa}	4.26±0.33^{A}	3.59±0.31^{A}
140	1.63±0.12	6.37±0.39^{Aa}	1.62±0.11^{Bb}	1.07±0.10^{Bb}	0.95±0.10^{Bb}	1.02±0.09^{Bb}	2.49±0.17^{B}	0.21±0.02^{C}

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P>0.05$)，不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)，不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。

In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with different capital letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$). The same as below.

2.2　不同组织器官中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量的变化

由表 3 可知，猪不同组织器官（除心脏外）中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量随日龄变化呈现逐渐升高的趋势。28 日龄猪肝脏、脾脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量较 1 日龄猪分别提高了 249.41%（$P<0.01$）、116.36%（$P<0.01$）、137.07%（$P<0.01$）、84.31%（$P<0.05$）、63.37%（$P<0.05$）、69.00%（$P<0.05$）和 47.37%（$P<0.05$）；140 日龄猪各组织器官中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量较 1 和 28 日龄猪均极显著升高（$P<0.01$）。

表 3　不同组织器官中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量的变化

Table 3　Changes of *ADIPOR1* mRNA expression in different tissues and organs

日龄 Days of age	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	肾脏 Kidney	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
	组织器官 Tissue and organ							

1	1.28±0.13^{Bb}	0.85±0.07^{C}	1.10±0.05^{C}	1.16±0.07^{C}	1.02±0.05^{Bb}	1.01±0.04^{Bb}	1.00±0.09^{Bb}	0.95±0.05^{Bb}
28	1.01±0.08^{Bb}	2.97±0.30^{B}	2.38±0.37^{B}	2.75±0.22^{B}	1.88±0.13^{Ba}	1.65±0.12^{Ba}	1.69±0.15^{Ba}	1.40±0.11^{Ba}
140	9.76±1.01^{Aa}	10.16±1.12^{A}	17.44±2.51^{A}	66.93±10.37^{A}	126.6±30.43^{Ac}	107.44±23.21^{Ac}	107.40±25.44^{Ac}	113.46±19.78^{Ac}

2.3　不同组织器官中 *ADIPOR*2 mRNA 表达量的变化

由表 4 可知，猪不同组织器官中 *ADIPOR*2 mRNA 表达量随日龄变化呈现逐渐升高的趋势。28 日龄猪不同组织器官中 *ADIPOR*2 mRNA 表达量较 1 日龄猪均极显著升高（P<0.01），心脏、肝脏、脾脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌增幅分别达到 89.60%、164.23%、146.09%、132.17%、116.67%、94.34%、102.80%和 92.52%；140 日龄猪不同组织器官中 *ADIPOR*2 mRNA 表达量较 1 和 28 日龄猪均极显著升高（P<0.01）。

表 4　不同组织器官中 *ADIPOR*2 mRNA 表达量的变化

Table 4　Changes of *ADIPOR*2 mRNA expression in different tissues and organs

日龄 Days of age	组织器官 Tissue and organ							
	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	肾脏 Kidney	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
1	1.25±0.1	1.23±0.10^{C}	1.15±0.07^{C}	1.15±0.07^{C}	1.08±0.04^{C}	1.06±0.03^{C}	1.07±0.03^{C}	1.07±0.03^{C}
28	2.37±0.3	3.25±0.41^{B}	2.83±0.25^{B}	2.67±0.29^{B}	2.34±0.22^{B}	2.06±0.32^{B}	2.17±0.22^{B}	2.06±0.17^{B}
140	63.00±9.76^{A}	59.24±10.23^{A}	148.51±36.72^{A}	209.55±45.64^{A}	983.37±123.45^{A}	824.92±132.98^{A}	1 048.66±187.7	228.11±39.78^{A}

2.4　不同组织器官中 *TBP* mRNA 表达量的变化

由表 5 可知，猪大部分组织器官中 *TBP* mRNA 表达量基本呈现逐渐升高的趋势。其中，28 日龄猪心脏和肝脏中 *TBP* mRNA 表达量较 1 日龄猪分别降低了 37.32%（P>0.05）和 9.33%（P>0.05），而脾脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌中 *TBP* mRNA 表达量则分别提高了 30.11%（P>0.05）、20.63%（P>0.05）、245.78%（P<0.01）、75.41%（P>0.05）、194.44%（P<0.01）和 445.45%（P<0.01）；140 日龄猪不同组织器官中 *TBP* mRNA 表达量较 1 和 28 日龄猪均出现极显著升高（P<0.01）。

表 5　不同组织器官中 *TBP* mRNA 表达量的变化

Table 5　Changes of *TBP* mRNA expression in different tissues and organs

日龄 Days of age	组织器官 Tissue and organ							
	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	肾脏 Kidney	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
1	1.42±0.19^{Bb}	0.75±0.11^{Bb}	0.93±0.03^{Bb}	0.63±0.17^{Bb}	0.83±0.08^{C}	0.61±0.17^{Bb}	0.72±0.12^{C}	1.32±0.14^{C}
28	0.89±0.17^{Bb}	0.68±0.10^{Bb}	1.21±0.15^{Bb}	0.76±0.11^{Bb}	2.87±0.35^{B}	1.07±0.28^{Bb}	2.12±0.26^{B}	7.20±1.03^{B}
140	20.27±3.67^{Aa}	173.57±23.46^{Aa}	27.70±4.21^{Aa}	13.00±2.56^{Aa}	15.89±2.74^{A}	17.43±3.02^{Aa}	16.01±3.12^{A}	59.81±8.93^{A}

2.5　不同组织器官中 *TOP2β* mRNA 表达量的变化

由表 6 可知，28 日龄猪肝脏和脾脏中 *TOP*2β mRNA 表达量较 1 日龄猪分别降低了 66.13%（*P*<0.05）和 11.46%（*P*>0.05），而 28 日龄猪心脏、肾脏、背肌、背脂、腹脂和股肌中 *TOP*2β mRNA 表达量较 1 日龄猪分别提高了 14.97%（*P*>0.05）、12.50%（*P*>0.05）、156.00%（*P*<0.01）、924.65%（*P*<0.01）、157.63%（*P*<0.01）和 603.13%（*P*<0.01）；140 日龄猪不同组织器官中 *TOP*2β mRNA 表达量较 1 和 28 日龄猪均出现极显著提高（*P*<0.01）。猪大部分组织器官中 *TOP*2β mRNA 表达量基本逐渐升高的趋势。

表 6　不同组织器官中 *TOP*2β mRNA 表达量的变化

Table 6　Changes of *TOP*2β mRNA expression in different tissues and organs

日龄 Days of age	组织器官 Tissue and organ							
	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	肾脏 Kidney	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
1	1.47±0.21^{Bb}	0.62±0.17^{Ba}	1.57±0.25^{Bb}	0.72±0.12^{Bb}	1.00±0.03^{C}	1.42±0.19^{C}	0.59±0.08^{C}	0.96±0.02^{C}
28	1.69±0.29^{Bb}	0.21±0.01^{Bb}	1.39±0.25^{Bb}	0.81±0.02^{Bb}	2.56±0.31^{B}	14.55±2.19^{B}	1.52±0.23^{B}	6.75±1.26^{B}

140	36.71±4.89[Aa]	157.42±26.34[Ac]	64.12±8.91[Aa]	23.11±2.71[Aa]	38.45±3.90[A]	139.48±25.43[A]	14.12±1.23[A]	53.00±4.13[A]

2.6　不同组织器官中 ADIPOD 蛋白表达量的变化

由表 6 可知，1 和 28 日龄猪背肌、背脂、腹脂和股肌中 ADIPOD 蛋白的表达量均无显著差异（P>0.05）；相较于 1 日龄猪，140 日龄猪 4 个组织中 ADIPOD 蛋白的表达量分别降低了 19.01%（P>0.05）、7.77%（P>0.05）、41.96%（P>0.05）和 45.54%（P>0.05），较 28 日龄猪分别降低了-4.26%（P>0.05）、12.84%（P>0.05）、39.81%（P>0.05）和 54.92%（P<0.05）。除了背肌外，背脂、腹脂和股肌中 ADIPOD 蛋白的表达量在 28~140 日龄呈现下降趋势。

表 7　不同组织器官中 ADIPOD 蛋白表达量的变化

Table 7　Changes of ADIPOD protein expression in different tissues and organs

日龄 Days of age	组织器官 Tissue and organ			
	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
1	1.21±0.12	1.03±0.02	1.12±0.22	1.01±0.04[ab]
28	0.94±0.20	1.09±0.14	1.08±0.21	1.22±0.27[a]
140	0.98±0.08	0.95±0.11	0.65±0.06	0.55±0.05[b]

2.7　不同组织器官中 ADIPOR1 蛋白表达量的变化

由表 8 可知，除腹脂中 ADIPOR1 蛋白的表达量略有升高（P>0.05）外，28 日龄猪背肌、背脂和股肌中 ADIPOR1 蛋白的表达量较 1 日龄猪分别降低了 3.88%（P>0.05）、0.96%（P>0.05）和 5.45%（P>0.05）；140 日龄猪不同组织中 ADIPOR1 蛋白的表达量均低于 1 和 28 日龄猪，降幅分别达到 6.80%（P>0.05）、38.46%（P<0.05）、17.82%（P>0.05）、24.55%（P>0.05）和 3.03%（P>0.05）、37.86%（P<0.05）、22.43%（P>0.05）、20.19%（P>0.05）。猪背肌、背脂和股肌中 ADIPOR1 蛋白的表达量呈现逐渐降低的趋势。

表 8　不同组织器官中 ADIPOR1 蛋白表达量的变化

Table 8　Changes of ADIPOR1 protein expression in different tissues and organs

日龄 Days of age	组织器官 Tissue and organ			
	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle

1	1.03±0.02	1.04±0.02[a]	1.01±0.07	1.10±0.05
28	0.99±0.09	1.03±0.10[a]	1.07±0.11	1.04±0.08
140	0.96±0.06	0.64±0.05[b]	0.83±0.06	0.83±0.04

2.8　不同组织器官中 ADIPOR2 蛋白表达量的变化

由表 9 可知，除股肌中 ADIPOR2 蛋白的表达量略有升高（P>0.05）外，28 日龄猪背肌、背脂和腹脂中 ADIPOR2 蛋白的表达量较 1 日龄猪分别降低了 12.61%（P>0.05）、4.31%（P>0.05）和 1.65%（P>0.05）；除背肌外，140 日龄猪背脂、腹脂和股肌组织中 ADIPOR2 蛋白的表达量均低于 1 和 28 日龄猪，降幅分别达到 37.93%（P>0.05）、63.64%（P>0.05）、59.09%（P>0.05）和 35.14%（P>0.05）、63.03%（P>0.05）、63.11%（P<0.05）。猪背肌和腹脂中 ADIPOR2 蛋白的表达量呈现逐渐降低的趋势。

表 9　不同组织器官中 ADIPOR2 蛋白表达量的变化

Table 9　Changes of ADIPOR2 protein expression in different tissues and organs

日龄	组织器官 Tissue and organ			
Day of age	背肌 Back muscle	背脂 Back fat	腹脂 Abdominal fat	股肌 Femoral muscle
1	1.19±0.11	1.16±0.11	1.21±0.39	1.10±0.23[ab]
28	1.04±0.32	1.11±0.20	1.19±0.33	1.22±0.24[a]
140	1.11±0.06	0.72±0.06	0.44±0.05	0.45±0.05[b]

3　讨　论

3.1　不同组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 和蛋白表达量的变化

初生仔猪不同组织中 *ADIPOQ* mRNA 表达量一般比较低，这和仔猪的自身条件有关，仔猪刚出生时前体脂肪较多，而成熟的细胞较少，而随着仔猪的生长发育，前体脂肪细胞不断分化为成熟的脂肪细胞，*ADIPOQ* mRNA 表达量也表现出大幅度的升高。Ramsay 等[8]测定了新生仔猪 1~21 日龄脂肪组织中各种脂肪因子的发育性变化，结果发现 *ADIPOQ* mRNA 表达量显著上升；此外，对兔子的研究也发现，*ADIPOQ* 在不同年龄兔子体内的表达差异极显著[9]。本试验结果显示，除了 28 日龄心脏外，其余组织中 *ADIPOR* mRNA 表达量均显著高于 1 日龄，这是因为心脏中脂肪含量较少，且 ADIPOQ 的分泌量较小，所以心脏中的变化不会太明显。有研究而表明，肥胖会导致猪 ADIPOQ 的合成和分泌量减少[10]。本试验结果表明，随着猪日龄的增加，不同组织中 *ADIPOQ* mRNA 表达量大致呈现出先上升再下降

的趋势。这是因为后期猪通过自身脂肪的大量沉积，进行自身调节，所以 ADIPOQ 蛋白的表达量呈现出逐渐降低的趋势。

3.2　不同组织器官中 *ADIPOR*1、*ADIPOR*2 mRNA 和蛋白表达量的变化

动物机体中 *ADIPOR*1 和 *ADIPOR*2 mRNA 和蛋白的表达量与脂肪沉积的状态密切相关。一般情况下，随着动物年龄的增大，细胞分裂增殖等新陈代谢活动逐渐增强，*ADIPOQ* 及其受体的表达也会受其影响而不断变化。Ocón-Grove 等[11]研究发现，成年公鸡睾丸中 *ADIPOR*1 及 *ADIPOR*2 mRNA 的表达量分别是青年鸡的 8.3 和 9.0 倍；Pischon 等[12]发现在生长鼠脂肪组织中，ADIPOQ 含量开始时会不断增加，直到第 8~10 周时才开始逐渐下降。在猪的初期生长阶段，前体脂肪细胞大量分化为成熟的脂肪细胞，包括后期脂肪的沉积阶段脂肪细胞大量生长，在这种情况下，*ADIPOR*1 和 *ADIPOR*2 mRNA 表达量也会随着成熟脂肪细胞数量的增加而逐渐升高。本试验结果显示，除了 28 日龄心脏中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量要低于 1 日龄以外，各组织器官中 *ADIPOR*1 mRNA 表达量均随日龄的增长而升高；各组织器官中 *ADIPOR*2 mRNA 表达量也随着日龄的增加而提高。mRNA 表达量的升高不等同于蛋白表达量的升高，随着猪的生长，脂肪会大量的积累，在这种情况下，机体会自动调节 ADIPOR1 和 ADIPOR2 蛋白的表达量，通过降解一部分 ADIPOR1 和 ADIPOR2 蛋白来确保脂肪组织的沉积，因此，随着猪的生长发育，ADIPOR1 和 ADIPOR2 蛋白的表达量却逐渐降低，这是由猪机体脂肪沉积的需要来进行调节的。De Rosa 等[13]发现肥肉型卡赛塔纳猪肌肉、内脏和肾脏周围脂肪中 ADIPOR 蛋白的表达量均低于瘦肉型的长白猪。本试验结果也显示，除了 28 日龄时腹脂中 ADIPOR1 蛋白的表达量要高于 1 日龄以外，背肌、背腹脂和股肌中 ADIPOR1 蛋白的表达量均随着日龄的增长出现逐步降低的趋势；背肌和腹脂中 ADIPOR2 蛋白的表达量随日龄的增加而降低。

3.3　不同组织器官中 *TOP*2β和 *TBP* mRNA 表达量的变化

目前，对于动物机体中 *TOP*2β和 *TBP* mRNA 表达量的研究还比较少。在本研究中，除了 28 日龄时心脏和肝脏中 *TOP*2β mRNA 表达量要低于 1 日龄以外，各组织器官中 *TOP*2β mRNA 表达量均随着日龄的增长而呈现出逐渐升高的趋势；除了 28 日龄时肝脏和脾脏中 *TBP* mRNA 表达量低于 1 日龄以外，各组织器官中 *TBP* mRNA 表达量均随着日龄的增长呈现出显著或极显著升高。真核生物的 *TOP*2β是同型二聚体酶，对于在普通的瞬时双链 DNA 切割形成过程中改变 DNA 的拓扑学具有非常关键的作用[14]，拓扑异构酶对于 DNA 的复制、

包装、修复以及 DNA 拓扑学上允许的变化的转录具有非常关键的作用；而 *TBP* 一个最重要的功能是促进真核生物转录。随着猪的生长发育，机体细胞数量大幅增长，*TOP*2β和 *TBP* mRNA 表达量也大幅度升高，这对于保证机体细胞的正常分裂具有十分重要的作用。

4 结 论

① 随着猪的生长，不同组织器官中 *ADIPOQ* mRNA 表达量呈现先上升再下降的趋势，而 *ADIPOR*1 和 *ADIPOR*2 mRNA 表达量则呈现逐渐升高的趋势；ADIPOD、ADIPOR1 和 ADIPOR2 蛋白的表达量在猪的生长后期均出现降低的趋势。

② 随着猪的生长，不同组织器官中 *TOP*2β和 *TBP* mRNA 表达量也大幅度升高。

③ *ADIPOQ* 及相关基因 mRNA 和蛋白的表达量与猪的脂肪沉积呈负相关，机体能根据自身需要对其进行调节。

参考文献：

[1] ČEPICA S,MASOPUST M,KNOLL A,et al.Linkage and RH mapping of the porcine *adiponectin* gene on chromosome 13[J].Animal Genetics,2005,36(3):276–277.

[2] DAI M H,XIA T,ZHANG G D,et al.Cloning,expression and chromosome localization of porcine adiponectin and adiponectin receptors genes[J].Domestic Animal Endocrinology,2006,30(2):117–125.

[3] YAMAUCHI T,KAMON J,MINOKOSHI Y,et al.Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase[J].Nature Medicine,2002,8(11):1288–1295.

[4] KADOWAKI T,YAMAUCH T,KUBOTA N,et al.Adiponectin and adiponectin receptors in obesity-linked insulin resistance[J].Novartis Foundation Symposium,2007,286:164–176.

[5] DING S T,LIU B H,KO Y H.Cloning and expression of porcine adiponectin and adiponectin receptor 1 and 2 genes in pigs[J].Journal of Animal Science,2004,82(11):3162–3174.

[6] 宋虎威.沙子岭猪脂联素基因的克隆及其真核表达[D].硕士学位论文.长沙:湖南农业大学,2012.

[7] SIMMS D,CIZDZIEL P E,CHOMCZYNSKI P.Trizol^{TM}:a new reagent for optimal single-step isolation of RNA[J].Focus,1993,15:532–535.

[8] RAMSAY T G,CAPERNA T J.Ontogeny of adipokine expression in neonatal pig adipose tissue[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part B:Biochemistry and Molecular Biology,2009,152(1):72–78.

[9] LI C J,ZHU F L,SUN H W,et al.Cloning of rabbit adiponectin and its relationship to age and high-cholesterol diet[J].Journal of Endocrinological Investigation,2008,31(9):755–759.

[10] LEDOUX S,CAMPOS D B,LOPES F L,et al.Adiponectin induces periovulatory changes in ovarian follicular cells[J].Endocrinology,2006,147(11):5178–5186.

[11] OCÓN-GROVE O M,KRZYSIK-WALKER S M,MADDINENI S R,et al.Adiponectin and its receptors are expressed in the chicken testis:influence of sexual maturation on testicular *ADIPOR1* and *ADIPOR2* mRNA abundance[J].Reproduction,2008,136(5):627–638.

[12] PISCHON T,GIRMAN C J,RIFAI N,et al.Association between dietary factors and plasma adiponectin concentrations in men[J].The American Journal of Clinical Nutrition,2005,81(4):780–786.

[13] DE ROSA A,MONACO M L,NIQRO E,et al.Tissue-specific downregulation of the adiponectin "system":possible implications for fat accumulation tendency in the pig[J].Domestic Animal Endocrinology,2013,44(3):131–138.

[14] GAO R,SCHELLBNERG M J,HUANG S Y N,et al.Proteolytic degradation of topoisomerase Ⅱ (Top2) enables the processing of Top2·DNA and Top2·RNA covalent complexes by tyrosyl-DNA-phosphodiesterase 2 (TDP2)[J].Journal of Biological Chemistry,2014,289(26):17960–17969.

Developmental Changes on Related Gene and Protein Expression of Adiponectin of *Shaziling* Pigs

CHEN Yuguang QIN Longshan HE Xi[i]

（*College of Animal Science and Technology*, *Hunan Agricultural University*; *Hunan Livestock Safety Production Cooperative Innovation Center*, *Changsha* 410001, *China*）

Abstract: The experiment was conducted to research the developmental changes of mRNA and protein expression of adiponectin （*ADIPOQ*）, adiponectin receptors （*ADIPOR*） and related gene in *Shaziling* pigs. The developmental changes on mRNA and protein expression of *ADIPOQ*, *ADIPOR*1, ADIPOR2, topoisomerase 2β (*TOP*2β) and TATA binding protein (*TBP*) of different tissue and organ were measured in 12 *Shaziling* pigs (1, 28 and 140 days of age, 4 head per age). The result showed that the mRNA expressions of *ADIPOQ*, *ADIPOR1*, *ADIPOR2*, *TOP2β* and *TBP* in different tissue and organ of pigs were tend to increase with the growth of pigs, the mRNA expressions of the above genes in most tissue and organ on 140 day of age were significantly higher than those on 1 day of age （$P<0.05$ or $P<0.01$）. The protein expressions of ADIPOD, ADIPOR1 and ADIPOR2 in most tissue and organ showed a decreased trend. The results showed that the mRNA expressions of related gene and proteins of *ADIPOQ* are negatively correlation with the fat deposition of pigs, and the body can be adjusted according to its own needs.

Key words: adiponectin; adiponectin receptor; gene; developmental change; *Shaziling* pig

---

Author, CHEN Yuguang, associate professor, E-mail: 86851365 @qq.com （责任编辑 武海龙）